	Page de garde des rapports de stage	Dates du stage du 01/07/2009 au 31/12/2009
	Stage d'exécution <input type="checkbox"/> Stage élève – ingénieur <input type="checkbox"/> Stage année en entreprise : <input type="checkbox"/> 12 mois <input checked="" type="checkbox"/> 1 ^{er} semestre <input type="checkbox"/> 2 ^{ème} semestre Stage projet de fin d'études <input type="checkbox"/>	

Nom et Prénom du stagiaire : **CHATAING Sophie**

Spécialité : ☒ CGP ☐ ETI

Confidentialité du rapport : ☐ OUI ☒ NON

Titre du rapport en français : **CARACTERISATION, SPECIATION ET
BIODISPONIBILITE DES METAUX LOURDS DANS UNE LARGE
GAMME DE SOLS ET DE DECHETS ORGANIQUES**

Titre du rapport en anglais: CARACTERIZATION, SPECIATION AND BIOAVAILABILITY OF HEAVY METALS IN
SOILS AND ORGANIC WASTES



Nom de l'entreprise /organisme : CIRAD

Ville : Aix en Provence

Pays : FRANCE

Nom et Prénom du maître de stage : DOELSCH Emmanuel (Chercheur)

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée et conseillée tout au long de ce stage, et en particulier :

- Mon maître de stage Mr DOELSCH Emmanuel, qui a toujours été présent et disponible pour répondre à mes questions et me conseiller dans l'évolution du projet. Il m'a appris à faire de très belles pastilles Infrarouge !
- Mr BRAVIN Matthieu qui, lui aussi, a toujours été là pour m'apporter des explications sur les plantes en général et le RHIZOtest en particulier.
- Le personnel du laboratoire CEREGE dans son ensemble pour leur disponibilité et leur accueil et plus particulièrement Fanny Coutelot et Sylvain Rigaud.

Sommaire

REMERCIEMENTS	2
INTRODUCTION	4
I- PROBLEMATIQUE.....	5
II- LA MISSION ET LES OBJECTIFS	6
1-Le cadre du stage.....	6
2- Le projet ISARD	6
3- Les objectifs de mon stage	6
III- DESCRIPTION DES TRAVAUX.....	7
1- Caractérisation des PRO	7
2-Biodisponibilité des éléments traces métalliques.....	7
IV- RESULTATS.....	8
1-Caractérisation des PRO	8
a-Matière sèche et répartition granulométrique	8
b-Etude des PRO par spectroscopie Infra rouge.....	9
2-Biodisponibilité des éléments traces métalliques.....	11
V- CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	13
BIBLIOGRAPHIE	14
ANNEXES	15
Annexe 1 : Description des PRO.....	16
Annexe 2 : Protocole de tamisage pour la granulométrie des PRO	18
Annexe 3 : Calcul de la durée de centrifugation.....	19
Annexe 4 : Protocole de mise en solution par attaque fluoro-nitro-perchlorique.....	20
Annexe 5 : Principe et description du RHIZOtest.....	21
Annexe 6 : Résultats de la caractérisation des PRO	24
Annexe 7 : Spectres des PRO bruts.....	25
Annexe 8 : Spectres Infrarouge des fractions granulométriques des PRO 6 et 11.....	34

INTRODUCTION

A la fin de ma quatrième année d'études à CPE LYON en filière CGP (Chimie Génie des Procédés), j'ai eu l'opportunité d'effectuer : soit un stage Elève-Ingénieur de trois mois, soit une année de césure en France et/ou à l'international. Mon choix s'est porté sur la deuxième possibilité, car j'y voyais l'occasion de réfléchir plus profondément à mon avenir professionnel. J'ai décidé de réaliser deux stages de six mois chacun afin de doubler les entreprises me recevant, les sujets traités, les domaines d'activités rencontrés et donc les expériences vécues.

Les objectifs d'une telle année sont multiples. Tout d'abord, les étudiants peuvent acquérir des compétences spécifiques à une technique ou un domaine d'activité. Ensuite, cette année permet, avec une mise en pratique sur un problème concret, de faire une synthèse des connaissances acquises lors de notre cursus à CPE LYON. Enfin, une telle expérience ne peut être que bénéfique au niveau de la définition de son projet professionnel et de son choix d'orientation pour la cinquième année d'école.

Ce rapport retrace mon travail effectué lors de mon premier stage de six mois (juillet à décembre 2009). Je l'ai réalisé dans un laboratoire de recherche public, le CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement). Le sujet de ce stage était le suivant : « Caractérisation, spéciation et biodisponibilité des métaux lourds sur une large gamme de sols et de déchets organiques par des méthodes physico-chimiques et une méthode biologique ».

Afin de rendre compte de ce stage, je vais en premier lieu exposer la mission qui m'a été confiée ainsi que les objectifs fixés. Ensuite, je détaillerai le déroulement de mon stage, puis les résultats obtenus. Pour finir, j'interpréterai ces résultats afin de conclure de manière générale et de définir les perspectives qui en découlent.

I- PROBLEMATIQUE

Le sujet de mon stage s'inscrit dans le contexte global suivant : l'augmentation de la population sur la planète s'accompagne nécessairement d'une augmentation de la production de déchets dont les déchets organiques (Document de soumission du projet ISARD à l'ANR, 2008). Depuis longtemps, ces déchets organiques ont été valorisés au niveau agricole du fait de leur pouvoir fertilisant (présence d'azote, de phosphore, d'oligo-éléments) (Doelsch *et al.*, 2006).

Cependant, ces déchets peuvent être aussi des vecteurs de polluants et dans ce sens, avoir d'éventuels impacts environnementaux et/ou toxicologiques. Cela peut se traduire par une accumulation de certains contaminants à la surface du sol ou en profondeur, par une dissémination des contaminants par érosion, lessivage ou évaporation ou encore par un transfert des contaminants vers les cultures et les aliments (Hargreaves *et al.*, 2008).

Parmi les contaminants des sols urbains ou ruraux, les éléments traces métalliques (ETM) sont les contaminants prédominants. L'Union Européenne s'est focalisée sur les éléments traces suivants : Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pd et Zn (Document de soumission du projet NormaRHIZO à l'ANR, 2009). Ces ETM proviennent de trois sources principales :

- Le fond pédogéochimique naturel (soit la composition de la croûte terrestre).
- Les apports atmosphériques (par le biais des précipitations ou des aérosols) d'où un traitement des rejets atmosphériques industriels.
- Les apports agricoles (matières fertilisantes, épandage de déchets...). Certains métaux (Zn et Cu pour le cas d'un élevage de porcs par exemple) sont ajoutés à la nourriture des animaux pour différentes propriétés. Le zinc est ajouté pour éviter des maladies de peau alors que le cuivre permet d'améliorer la vitesse de croissance des animaux. Les animaux ne métabolisant que 5 à 10% des métaux qu'ils absorbent, la quasi-totalité de ces métaux se retrouve dans leurs excréments et par la suite, lors d'épandage, au contact du sol.

La première source d'éléments traces métalliques est naturelle tandis que les deux suivantes sont anthropiques.

La connaissance des ETM dans les déchets organiques apparaît donc comme essentielle. Selon leur concentration et leur spéciation, les ETM peuvent être soit des oligo-éléments indispensables au développement d'un être vivant (plante ou animal) soit des éléments toxiques.

Par ailleurs, ces déchets pouvant être épandus sur des sols cultivés, il est nécessaire d'étudier leur devenir au contact d'une plante, c'est à dire leur biodisponibilité. Si la plante prélève des ETM, les lieux de stockage (racines, parties aériennes) doivent être connus afin de savoir si un danger existe lors de leur consommation.

Cette étude vise à compléter les rares connaissances au niveau des déchets organiques ainsi qu'au niveau de leurs interactions avec le sol et la plante. Les déchets organiques présentent une grande diversité, c'est pourquoi nous avons souhaité diversifier les produits résiduels organiques (PRO) analysés sans pour autant se définir comme exhaustif.

Cette étude a été conduite selon des approches physico-chimique et biologique car la biodisponibilité des polluants dans les déchets organiques ne peut pas être représentative par une approche uniquement chimique (Marcato *et al.*, 2008, Harmsen, 2007).

II- LA MISSION ET LES OBJECTIFS

1-Le cadre du stage

Le CIRAD comporte 52 unités de recherche réparties en trois départements : systèmes biologiques, performance des systèmes de production et de transformation tropicaux (PERSYST) et environnement et sociétés. J'étais rattachée à l'unité propre de recherche (UPR) Risque environnemental lié au recyclage, elle-même rattachée à PERSYST.

L'objectif de l'unité est de proposer des solutions pour recycler les matières organiques et les déchets par des pratiques agricoles à risques agro-environnementaux contrôlés, et utilisant au mieux le pouvoir épurateur du sol et de la plante.

Mon stage n'a pas pris place au sein des locaux du CIRAD de Montpellier, mais à Aix en Provence où deux chercheurs sont détachés dans le laboratoire CEREGE (Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement).

2- Le projet ISARD

Mon stage s'inscrit dans le cadre du projet ISARD (Intensification écologique des Systèmes de production Agricoles par le Recyclage des Déchets). Ce projet a pour but la mise au point d'un ensemble de méthodes et d'outils permettant l'utilisation du recyclage des produits résiduels organiques (PRO) pour augmenter les productions agricoles via l'intensification des processus écologiques se déroulant dans les sols, et ceci, tout en limitant les risques posés par ces pratiques. ISARD est développé sur quatre ans par plusieurs institutions (CIRAD, INRA, IRD, ISRA ainsi que des Universités) et se déroule sur quatre sites (Plaine de Versailles, Dakar au Sénégal, Mahajanga à Madagascar et La Réunion).

3- Les objectifs de mon stage

Mon stage correspond à une partie du projet ISARD qui s'intéresse au devenir des PRO une fois épandues et aux effets sur les sols et les cultures. Ces effets concernent :

- directement la production du sol, en termes de rendement ou de qualité des récoltes. La qualité s'entend de manière positive (valeur nutritive) ou négative (présence de contaminants indésirables).
- la valeur du sol car l'apport de PRO peut augmenter la capacité de rétention en eau et nutriments, la capacité structurale, mais aussi s'accompagner d'une contamination.

Mon travail a été articulé selon deux axes. Le premier a pour objectifs de caractériser les PRO (taux de matière sèche, répartition et concentrations totales en éléments majeurs et traces métalliques (ETM)...). Le second a comme finalité la détermination de la biodisponibilité des ETM (prélèvement ou non des ETM par la plante, si oui en quelles proportions et dans quelles parties de la plante (racines, feuilles)).

III- DESCRIPTION DES TRAVAUX

1- Caractérisation des PRO

Pour l'ensemble des expériences réalisées, nous avons utilisé quatorze PRO issus des quatre sites du projet ISARD, à savoir : Madagascar, La Réunion, Dakar et Feucherolles (Plaine de Versailles). Leurs descriptions sont données en annexe 1.

La première étape consistait à déterminer les propriétés suivantes de ces PRO : taux de matière sèche, fractionnement granulométrique, répartition des métaux dans les différentes fractions granulométriques, concentrations totales en éléments majeurs et éléments traces métalliques (ETM). Le fractionnement granulométrique a pour but de séparer les différents éléments constitutifs des déchets organiques afin de déterminer dans quelle fraction la concentration en ETM est la plus élevée.

Afin de fractionner les PRO, nous avons procédé à un tamisage humide selon le protocole rapporté en Annexe 2. Chaque fraction a ensuite été broyée à 1mm à l'aide d'un broyeur à fléau et mise en solution par une attaque tri-acides (protocole donné en Annexe 4). Les concentrations en ETM ont été déterminées par ICP. Afin de valider nos résultats, nous avons passé des standards internes (composts analysés par deux méthodes par le laboratoire d'analyses du CIRAD) ainsi qu'un standard international (BCR®-146R Sewage sludge from industrial origin).

Dans le but de compléter la caractérisation de ces déchets organiques, nous avons réalisé les spectres Infrarouge des quatorze PRO bruts (1mg de PRO broyé pour 100mg de KBr). Pour chaque pastille, 100 scans ont été enregistrés avec une résolution de 4 cm^{-1} , entre 4000 et 400cm^{-1} , sur un spectromètre FTIR Bruker Equinox 55 en utilisant le mode transmission.

2-Biodisponibilité des éléments traces métalliques

Cette partie avait pour but de déterminer la biodisponibilité des ETM pour les plantes. Afin d'atteindre cet objectif, nous avons mis en place des bio tests appelés RHIZOTest. Le principe et la description du RHIZOTest sont donnés en annexe 5.

La plante choisie pour cette culture est la laitue (Laitue Batavia Sierra). Cette plante a été choisie pour ces RHIZOTest pour plusieurs raisons. Tout d'abord, la plante utilisée devait être une plante maraîchère cultivée aux différents lieux où se déroule le projet ISARD. De plus, la plante devait être représentative, à la fin de la culture, du produit consommé. Par exemple, si la tomate avait été choisie, la phase de culture ne permettant pas d'obtenir le fruit, les analyses n'auraient pas été caractéristiques du produit consommé. Enfin, la laitue a déjà été utilisée à plusieurs reprises par des auteurs lors d'études sur les transferts de métaux.

Les plants de salade ont été mis en contact avec neuf traitements de sol différents :

- Sol mélangé avec du compost de déchets verts, Le Port (La Réunion) à J0, J3 et J62
- Sol mélangé avec du compost de lisier de porc, Colimaçons (La Réunion) à J0, J3 et J62
- Sol témoin, Colimaçons (La Réunion) à J0, J3 et J62.

IV- RESULTATS

1-Caractérisation des PRO

Les produits résiduels organiques (PRO) analysés sont très variés : compost d'ordures ménagères, fumier porcin, compost de déchets verts, terreau, fumier bovin, boue de stations d'épuration activée ou stabilisée, criblé de décharge, compost de lisier de porc ou compost de fientes de volailles.

a-Matière sèche et répartition granulométrique

Les taux de matière sèche des quatorze PRO sont regroupés dans le tableau 1 en annexe 6. Les valeurs extrêmes sont de 59,33% (pour le PRO_8) et 98,36% (pour le PRO_13).

Le tamisage des produits (selon le protocole détaillé en annexe IV-1-a) illustre bien la variété des PRO. Le graphique suivant représente, pour chaque essai de chaque PRO, les fractions granulométriques exprimées en pourcentage de la masse totale récupérée.

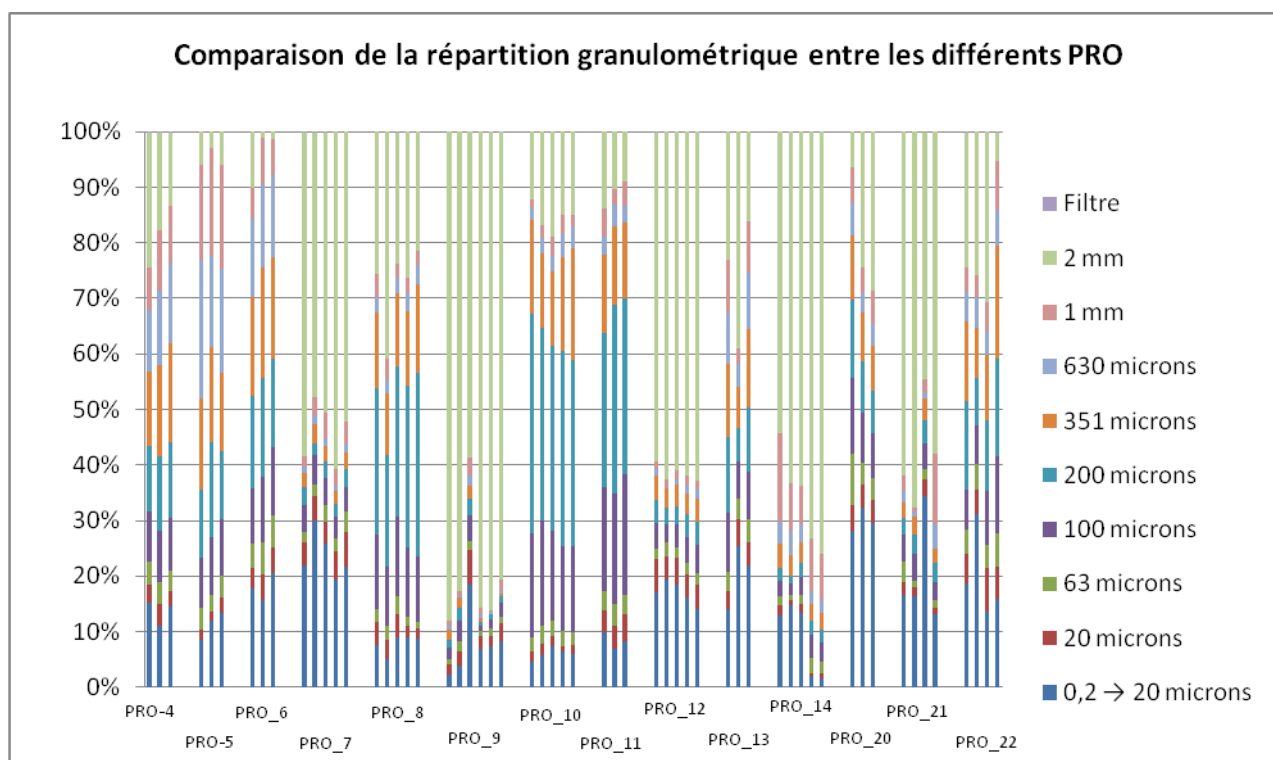


Figure IV-1-a : Pourcentage massique des fractions granulométriques des PRO

Pour certains PRO, plus de trois essais ont été réalisés afin d'obtenir des résultats homogènes et de récupérer une quantité de produit suffisante pour la mise en solution qui suit. Pour la même raison, il a été nécessaire de regrouper des fractions. Nous obtenons au final les fractions suivantes : 0,2 à 20µm, 20 à 200µm, 200 à 630µm, 630µm à 2mm et >2mm. Pour les PRO 5, 6 et 9, les fractions 630µm à 2mm et >2mm sont également rassemblées.

Nous pouvons remarquer que la répartition granulométrique varie de façon importante entre les PRO. Ainsi, les PRO 7, 9, 12, 14 et 21 ont comme fraction la plus importante celle qui est supérieure à

2mm. Cela est généralement dû à une présence importante de végétaux (branches, copeaux...) ou à des PRO très secs et compacts que l'humidification n'a pas suffi à désagréger (PRO 7 et 9).

b-Etude des PRO par spectroscopie Infra rouge

Les spectres Infrarouge des PRO 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 20, 21 et 22 présentent la même allure. Les variations proviennent principalement de la composante inorganique : les intensités ainsi que la résolution varient. Les spectres le plus intense et le moins intense, soit les spectres « extrêmes » qui encadrent ces variations, sont ceux des PRO 6 et 22. Ils sont donnés dans la figure IV-1-b 1.

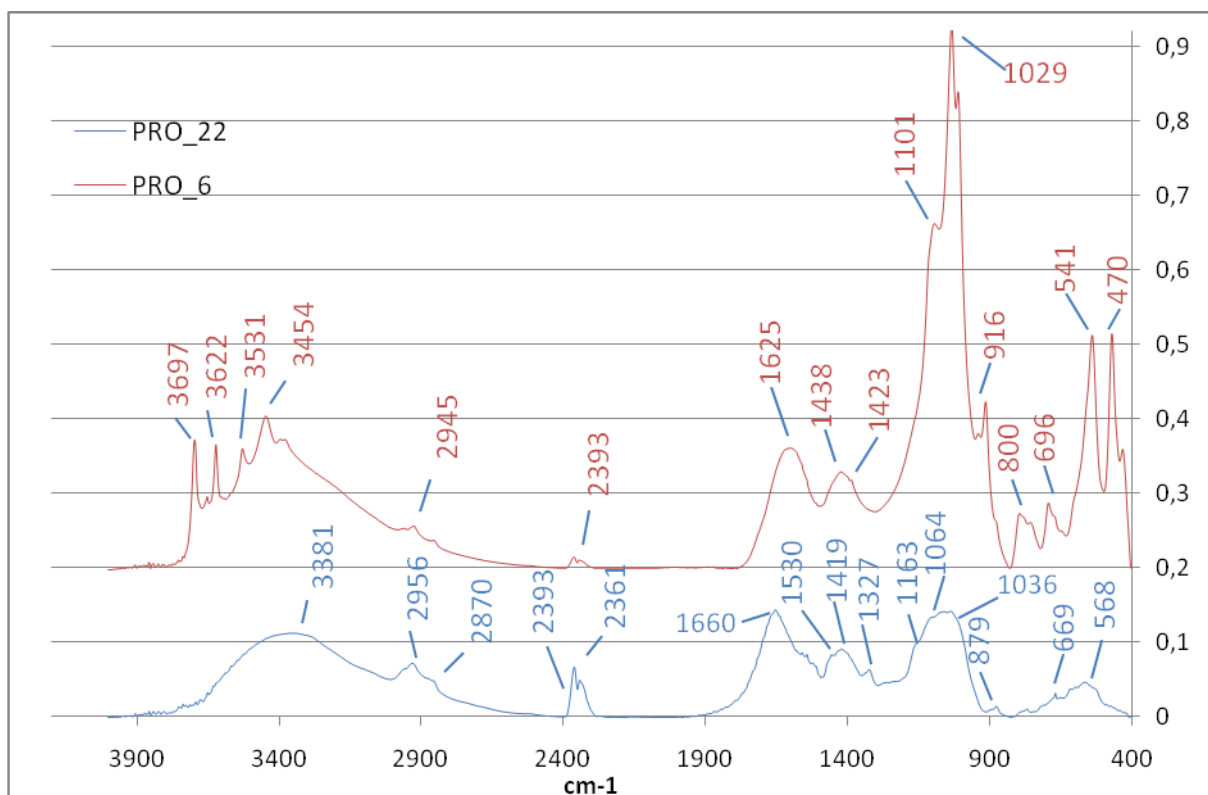


Figure IV-1-b 1: Spectres IRTF des PRO 6 et 22

- Description du spectre IRTF du PRO_6 :

Les quatre pics relativement bien résolus entre 3697 et 3454 cm^{-1} révèlent la présence d'hydroxyles (vibrations d'élongation). La résolution de ces hydroxyles nous conduit à penser qu'il s'agit de phases inorganiques bien cristallisées de type minéraux. La bande à 3697 cm^{-1} pourrait correspondre à de l'hydroxyde de magnésium $\text{Mg}(\text{OH})_2$, celle à 3622 cm^{-1} pourrait être la marque de la présence de $\text{Cd}(\text{OH})_2$ alors que le pic à 3527 cm^{-1} ferait référence à de l'hydroxyde de potassium KOH (The Infrared spectra of minerals, Farmer V. C.). Ce ne sont que des hypothèses, la présence de Cd dans notre cas est très peu probable. La bande faible à 2945 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation des C-H des chaînes aliphatiques. Le CO_2 sort à 2393 cm^{-1} (non compensé par le blanc de l'appareil). Les bandes à 1625 et 1483 cm^{-1} sont les marques de la présence d'amines dans le composé (vibrations de déformation de N-H et d'élongation de N-O, respectivement). Les carbonates se retrouvent avec les pics à 1423 et 696 cm^{-1} . Les bandes très fines et intenses à 1033 et 539 cm^{-1}

correspondent aux phosphates (vibration d'élongation et de déformation de P-O). Les silicates sont visualisables grâce aux pics à 1099, 918 et 469 cm^{-1} .

- *Description du spectre IRTF du PRO_22 :*

Ce spectre présente une large bande vers 3380 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation des hydroxyles. Cette présence d'hydroxyles est confirmée par la bande à 1327 cm^{-1} . Les deux pics observés à 2956 et 2870 cm^{-1} sont attribués à des chaînes aliphatiques (vibration d'élongation des liaisons C-H). Le pic à 2361 cm^{-1} correspond à la présence d'amines. Elles se retrouvent également dans la présence de pics à 1660 cm^{-1} (vibrations de déformation de N-H) et 1530 cm^{-1} (vibration d'élongation de N-O). Ce PRO contient de plus des carbonates repérables aux pics suivants : celui à 1419 cm^{-1} correspondant à des vibrations d'élongation de C-O ainsi que celui à 879 cm^{-1} (épaulement) correspondant aux vibrations de déformation de C-O. La forte bande à 1064 cm^{-1} ainsi que l'épaulement à 1163 cm^{-1} sont caractéristiques de la présence de silicates (vibration d'élongation de Si-O). Ceci est confirmé par une bande à 669 cm^{-1} attribué à des vibrations de déformation de Si-O.

Les spectres des PRO 4, 5 et 11 sont, quant à eux, différents des précédents. La figure IV-1-b 2 correspond aux spectres de ces 3 PRO ainsi que celui du PRO 6 pour comparaison.

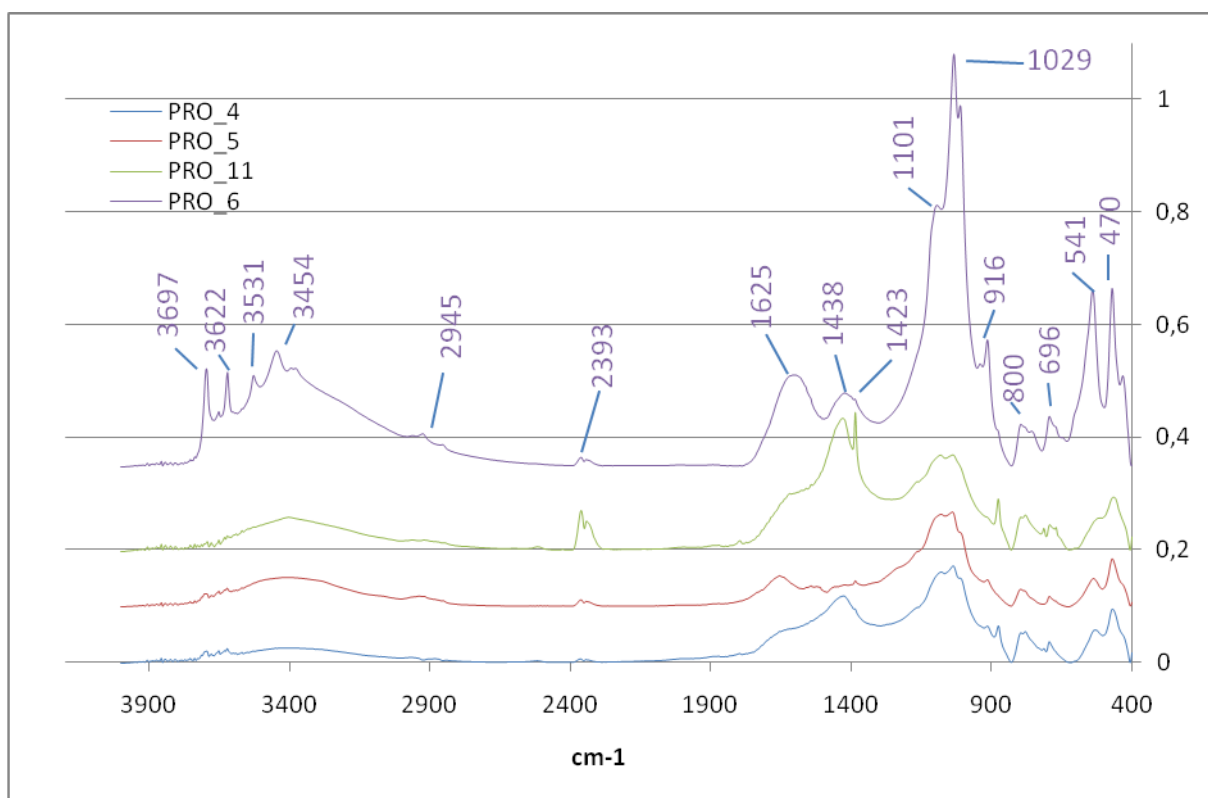


Figure IV-1-b 2 : Spectres IRTF des PRO 4, 5, 6 et 11

- *Description du spectre IRTF du PRO_4 :*

Sur le spectre du PRO_4, les hydroxyles sont présents du fait de la large bande vers 3427 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation. La présence de chaînes aliphatiques se remarque par les deux bandes à 2987 et 2904 cm^{-1} . Ces bandes sont cependant très peu intenses. Les pics à 1426, 875 et 779 cm^{-1} sont attribués aux carbonates. Ceux à 1085 cm^{-1} avec un épaulement à 1170 cm^{-1} ainsi que ceux à 694 et 468 cm^{-1} correspondent aux silicates. Les phosphates sont repérables à la forte bande à 1036 cm^{-1} ainsi que celle à 530 cm^{-1} .

- *Description du spectre IRTF du PRO_5 :*

Le spectre de ce PRO présente des similitudes avec celui du PRO_6. Des hydroxyles sont présents (large bande vers 3430cm^{-1}) mais ne sont pas aussi résolus. Les bandes caractéristiques des chaînes aliphatiques (2955cm^{-1}), des carbonates (1443 et 798cm^{-1}), des silicates (forte bande à 1085cm^{-1} avec un épaulement à 1170cm^{-1} , le pic à 694cm^{-1} ainsi que la bande très marquée à 469cm^{-1}) et des phosphates (bandes à 1045 et 538cm^{-1}) sont également visibles.

Cependant, ce spectre met en évidence une particularité absente chez les autres PRO. Une forte bande à 1725cm^{-1} (vibration d'élongation de C=O) ainsi qu'un épaulement à 1245cm^{-1} (vibration de la liaison C-O) sont caractéristiques de la présence d'acides carboxyliques dans ce composé. De plus, ce spectre ne révèle pas la présence d'amines dans le PRO_5.

- *Description du spectre IRTF du PRO_11 :*

Ce spectre présente une allure différente des autres spectres même si les composés présents sont identiques à ceux des autres PRO. Toutefois, les intensités des bandes varient de façon notable. La large bande vers 3423cm^{-1} correspond aux hydroxyles (vibrations d'élongation). L'expression des liaisons C-H se retrouvent avec les deux pics à 2947 et 2940cm^{-1} . La bande à 2361cm^{-1} traduit la présence d'amines, tout comme celle à 1624cm^{-1} . Contrairement aux autres spectres, la bande la plus forte ne se situe pas entre 1000 et 1100cm^{-1} . Ici, c'est les expressions des carbonates (vibrations d'élongation de C-O à 1430cm^{-1}) et des nitrates (vibration d'élongation de N-O à 1385cm^{-1}) qui forment le pic le plus intense. Les silicates (1172 , 1082 , 779 et 464cm^{-1}) et les phosphates (1034 et 528cm^{-1}) sont bien présents mais de façon moins intense que dans les précédents spectres.

Une synthèse des bandes présentes dans les spectres est donnée dans le tableau suivant (intensité faible +, intensité moyenne ++, intensité forte +++, non présent -) :

PRO	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	20	21	22
Hydroxyles	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Chaînes aliphatiques	+	+	+	++	++	++	+	+	++	+	++	+	+	++
Acide carboxylique	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amines	-	-	++	++	++	++	+	+	++	+	++	++	++	+++
Nitrates	-	-	-	++	-	++	-	+++	-	-	+	-	-	-
Carbonates	+++	-	+	+	++	+	++	+++	+	+	++	++	++	+
Phosphates	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Silicates	+++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	+	+	+++

Tableau IV-1-b : Synthèse des bandes Infrarouge de tous les PRO bruts

Afin de caractériser plus précisément les PRO, nous avons réalisé les spectres Infrarouge de chaque fraction granulométrique des PRO 6, 11 et 22. L'idée était de déterminer si certains éléments constitutifs d'un PRO étaient spécifiques d'une fraction granulométrique. Il se trouve que ce n'est pas le cas (cf. annexe 8). Chaque spectre d'une fraction granulométrique présente les mêmes bandes que celui du PRO brut.

2-Biodisponibilité des éléments traces métalliques

Lors de la récolte, les parties aériennes des plantes sont séparées des racines. Le sol est également récupéré et ces trois éléments sont analysés. Au préalable, les racines et les parties aériennes sont placées pendant trois jours dans une étuve à 105°C , les sols sèchent pendant une dizaine de jours à 30°C .

Les analyses des feuilles et des racines, du fait d'un manque de temps, ont été sous-traitées au laboratoire d'analyses interne du CIRAD de Montpellier.

Pour la même raison, les concentrations en éléments traces métalliques dans les PRO ont été déterminées par ce laboratoire.

Lors du rendu de ce rapport, la totalité des résultats des expériences menées pendant mon stage n'était pas disponible. Je n'ai donc présenté ici que ceux alors en ma possession.

V- CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au moment de rendre ce rapport, j'étais toujours en attente de résultats majeurs pour mon stage. Les conclusions présentées ici ne seront donc que partielles par rapport à l'étude menée pendant six mois. La connaissance des résultats encore manquants à ce jour permettra d'affiner plus précisément les perspectives de recherche futures.

Aux vues des résultats obtenus, nous sommes en mesure de confirmer la grande diversité, initialement supposée, des PRO. Leurs spectres Infrarouge ne diffèrent que légèrement mais leurs taux de matière sèche ainsi que leurs répartitions granulométriques sont très variables.

De plus, il ne semble pas exister de corrélation entre le type de PRO (compost, boue, fumier...) et les résultats de leurs caractérisations. Ainsi, deux terreaux ne présentent pas le même taux de matière sèche, ni la même répartition granulométrique ou les mêmes pics en Infrarouge. Ces différences proviennent probablement d'une préparation différente ainsi que de produits initialement différents. Par exemple, les PRO en provenance de Dakar présentent une proportion importante de sable que les autres échantillons n'ont pas. Ceci peut, en partie, expliquer la grande variabilité d'un PRO à un autre.

Afin de poursuivre et d'approfondir cette étude, il serait intéressant de déterminer la spéciation des éléments traces métalliques présents dans les PRO. Ceci permettrait d'estimer de manière précise la toxicité de ces produits. Ce travail devait initialement être réalisé pendant mon stage mais le temps nous a manqué pour mener à bien tous les aspects du sujet.

De même, il serait utile de mesurer l'impact d'une consommation de plantes maraîchères ayant reçues un traitement avec des produits résiduels organiques. Les conséquences sanitaires de l'épandage des produits organiques seraient alors estimées.

Le protocole appelé RHIZOtest a ici été mis en œuvre sur des laitues. Une des perspectives de ce stage est d'étendre ce bio test à d'autres plantes maraîchères afin de compléter le modèle utilisé, de vérifier son adaptabilité à d'autres espèces dans le but ultérieur de le normaliser.

Au niveau personnel, ce stage m'a été très enrichissant car novateur sur plusieurs points. Tout d'abord, ce fut mon premier stage de longue durée (les précédents ayant été de un mois seulement). Cela m'a permis de voir plus sur la durée, et donc plus en profondeur, le fonctionnement d'une entreprise (ici d'un laboratoire de recherche). Je pense ainsi avoir une vision plus conforme à la réalité que lors d'un stage de un mois.

De plus, ce stage a été mon premier dans le domaine de la recherche. Cet aspect scientifique m'intéressant, cela m'a permis de me faire une première expérience dans ce domaine et ainsi de m'en faire une opinion plus précise. J'ai largement apprécié la marge de manœuvre dont bénéficient les chercheurs. Une fois un projet validé et donc surtout financé, les chercheurs sont relativement libres pour mettre en place leurs expériences. Ceci permet donc une certaine créativité et une certaine souplesse dans la mise en place et la mise en œuvre du projet en question. Toutefois, la contrainte des financements de projets me semble être très importante. Si l'ANR (Agence Nationale pour la Recherche) juge un projet inapproprié, celui-ci ne sera pas mis en place même si il était essentiel pour l'équipe qui le portait. Ceci est cependant à relativiser du fait que, dans toute organisation, un projet nécessitant des fonds dépend du fin mot des financeurs.

Je n'ai ainsi pas eu de « déclic » franc pour faire de la recherche mais je n'exclue pas ce domaine pour mon avenir professionnel du fait des points positifs mentionnés précédemment.

BIBLIOGRAPHIE

- Alloway, B.J., 1990. Heavy metals in soils. Blackie ;Halsted Press, Glasgow New York, xiii, 339 p. pp.
- Aust, M.O., Thiele-Bruhn, S., Eckhardt, K.U., Leinweber, P., 2009. Composition of organic matter in particle size fractionated pig slurry. Bioresource Technology, 100(23): 5736-5743.
- Doelsch, E., Deroche, B. and Van De Kerchove, V., 2006. Impact of sewage sludge spreading on heavy metal speciation in tropical soils (Reunion, Indian Ocean). Chemosphere, 65(2): 286-293.
- Doelsch, E., Van de Kerchove, V. and Saint Macary, H., 2006. Heavy metal content in soils of Reunion (Indian Ocean). Geoderma, 134(1-2): 119-134.
- Guivarch A., Hinsinger P., Staunton S., 1999. Root uptake and distribution of radiocaesium from contaminated soils and the enhancement of Cs adsorption in the rhizosphere. Plant and soil, 211 : 131-138.
- Hargreaves, J.C., Adl, M.S., Warman, P.R., 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment, 123 (1-3): 1-14.
- Marcato, C.E., Pinelli, E., Cecchi, M., Winterton, P. and Guiresse, M., 2009. Bioavailability of Cu and Zn in raw and anaerobically digested pig slurry. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72(5): 1538-1544.
- Chaignon, V. and Hinsinger, P., 2003. A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil. Journal of Environmental Quality, 32(3): 824-833.
- Harmsen, J., 2007. Measuring bioavailability: From a scientific approach to standard methods. Journal of Environmental Quality, 36(5): 1420-1428.
- Uzu, G., Sobanska, S., Aliouane, Y., Pradere, P., Dumat, C., 2008. Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation. Environmental pollution, 157(4): 1178-1185.
- Document de soumission B du projet **ISARD** (Intensification écologique des **S**ystèmes de production **A**gricoles par le **R**ecyclage des **D**échets) à l'ANR, Programme STRA, édition 2008.
- Document de soumission B du projet **NormaRHIZO** (Vers la **n**ormalisation du **RHIZO**test pour l'évaluation de la phytodisponibilité des éléments traces en sols contaminés) à l'ANR, Programme CES, édition 2009.
- Thèse de Samuel Legros, Evaluation multi-échelle de l'impact environnemental de l'épandage de lisier de porc sur un sol tropical (île de la Réunion), Spéciation et modélisation du comportement du cuivre et du zinc, soutenue le 9 décembre 2008.

ANNEXES

Annexe 1 : Description des PRO

Annexe 2 : Protocole de tamisage pour la granulométrie des PRO

Annexe 3 : Calcul de la durée de centrifugation

Annexe 4 : Protocole de mise en solution par attaque fluoro-nitro-perchlorique








Annexe 5 : Principe et description du RHIZOtest








Annexe 6 : Résultats de la caractérisation des PRO

Annexe 7 : Spectres Infrarouge des PRO bruts

Annexe 8 : Spectres Infrarouge des fractions granulométriques des PRO 6 et 11

Annexe 1 : Description des PRO

Identification des PRO	Description	Provenance	Photo du PRO brut
ISARD_PRO_4	Compost Tananamadio	Madagascar	
ISARD_PRO_5	Fumier porcin	Madagascar	
ISARD_PRO_6	Terreau Andralanita	Madagascar	
ISARD_PRO_7	Boue stabilisée, station Cambérène	Sénégal	
ISARD_PRO_8	Compost d'ordures ménagères, compost démarré le 20/05/09	Sénégal	
ISARD_PRO_9	Boue activée, station de Pikine	Sénégal	
ISARD_PRO_10	Compost d'ordures ménagères, prêt à l'emploi	Sénégal	

ISARD_PRO_11	Criblé de décharge (terreau)	Sénégal	
ISARD_PRO_12	Fumier bovin	Feucherolles	
ISARD_PRO_13	Compost de déchets verts et boue d'épuration	Feucherolles	
ISARD_PRO_14	Compost d'ordures ménagères résiduaire	Feucherolles	
ISARD_PRO_20	Compost de déchets verts, Le Port	La Réunion	
ISARD_PRO_21	Compost de lisier de porc, maraîchage	La Réunion	
ISARD_PRO_22	Compost de fientes de volaille	La Réunion	

Annexe 2 : Protocole de tamisage pour la granulométrie des PRO

- Peser environ 4g de PRO. Mettre dans un flacon de 250mL avec 200mL d'eau ultra-pure.
- Agiter à l'agitateur rotatif, puissance 3, pendant 24h au minimum.
- Tamiser sur les 8 tamis suivants : 2mm, 1mm, 630 μ m, 351 μ m, 200 μ m, 100 μ m, 63 μ m, 20 μ m.
Prendre bien soin d'étaler la matière organique sur le tamis. Réutiliser l'eau du tamisage pour éviter d'ajouter trop d'eau ultra-pure.
- Sécher les tamis à l'étuve à 60°C pendant 4 heures minimum. Peser.
- Centrifuger la solution inférieure à 20 μ m, 90 minutes à 10000rpm (calcul expliqué en Annexe 2).
- Récupérer la solution surnageante et la filtrer sous vide sur un filtre 0,2 μ m. Conserver au froid.
- Sécher les culots à l'étuve (60°C, 2h). Peser.
- Conserver les différentes fractions dans des tubes en verre de 12mL.

Annexe 3 : Calcul de la durée de centrifugation

La solution est celle récupérée après le tamis 20 μ m. Dans cette solution, on souhaite séparer les particules inférieures à 0,2 μ m des autres et pour cela, nous utilisons une centrifugeuse.

Loi de Stokes :

$$V = \frac{d^2 \cdot (\rho_s - \rho_l) \cdot g}{18\mu}$$

d diamètre des particules (m)

ρ_s masse volumique des particules (kg.m^{-3})

ρ_l masse volumique du liquide (kg.m^{-3})

$g = r\omega^2$ force centrifuge avec r, distance par rapport à l'axe de rotation (m) et ω , vitesse de rotation (rad.s^{-1})

μ viscosité du liquide (Pa.s)

Dans notre cas :

- $r = 112\text{mm}$ (donnée du constructeur)
- $\omega = 10\,000\text{rpm}$ (tour par minute) soit 1047rad.s^{-1}
- $d = 0,2 \cdot 10^{-6}\text{ m}$
- $\rho_s = 1100\text{kg.m}^{-3}$ (entre 1100 et 1900 mais avec cette valeur, on aura la vitesse des particules les plus légères et donc les moins rapides)
- $\rho_l = 1000\text{kg.m}^{-3}$
- $\mu = 1\text{cP} = 10^{-3}\text{Pa.s}$
-

A.N. :

$$V = 2,73 \cdot 10^{-5}\text{m.s}^{-1} = \underline{\underline{0,027\text{mm.s}^{-1}}}$$

Le tube de centrifugation étant rempli sur une hauteur de 10cm environ, le temps nécessaire à la centrifugation est d'environ 1h et 2 minutes. Pour être sur, l'étape de centrifugation sera de 1h30 à 10000rpm.

Annexe 4 : Protocole de mise en solution par attaque fluoro-nitro-perchlorique

Cette procédure, applicable aux échantillons de sols, sédiments, roches, boues de station d'épuration, demande une calcination préalable pour les matériaux dont la teneur en matière organique est supérieure à 4%. Elle permet de doser les éléments suivants : Al, Ba, Cd, Ca, Cs, Cr, Co, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sr, Ti, Zn.

- Peser environ exactement 200mg d'échantillon préparé pour l'essai (broyé à 1mm) dans un Savilex (godet en Téflon).
Lorsque la teneur en C organique est supérieure à 4% (ce qui a toujours été le cas avec les échantillons analysés), calciner dans un four à moufle pendant 2 heures à 500°C et laisser refroidir à température ambiante dans un dessiccateur.
- Humecter l'échantillon (ou les cendres) avec 1mL d'eau. Verser doucement 5mL d'acide nitrique, 5mL d'acide fluorhydrique puis 2mL d'acide perchlorique.
- Laisser en contact une nuit, puis porter sur une plaque chauffante (170°C) jusqu'à être à sec puis jusqu'à cessation complète des fumées blanches.
- Ajouter environ 10mL d'eau, puis 5mL d'acide chlorhydrique et chauffer jusqu'à dissolution totale du résidu (Savilex fermé, 140°C environ).
- Après refroidissement, transvaser dans une fiole jaugée de 25mL (dilution ultérieure si nécessaire). Ajuster au trait de jauge avec de l'eau, boucher et agiter manuellement.
- Transvaser dans un godet en plastique préalablement rincé avec la solution.

Annexe 5 : Principe et description du RHIZOtest

Le RHIZOtest est un test biologique, bio-test, dont le but est d'estimer la phytodisponibilité des éléments traces dans les sols. Le RHIZOtest a été mis au point par Guivarch *et al.* (1999). Un schéma explicatif du dispositif est donné dans la figure A5-1, les photos suivantes A5-2 illustrent ce schéma.

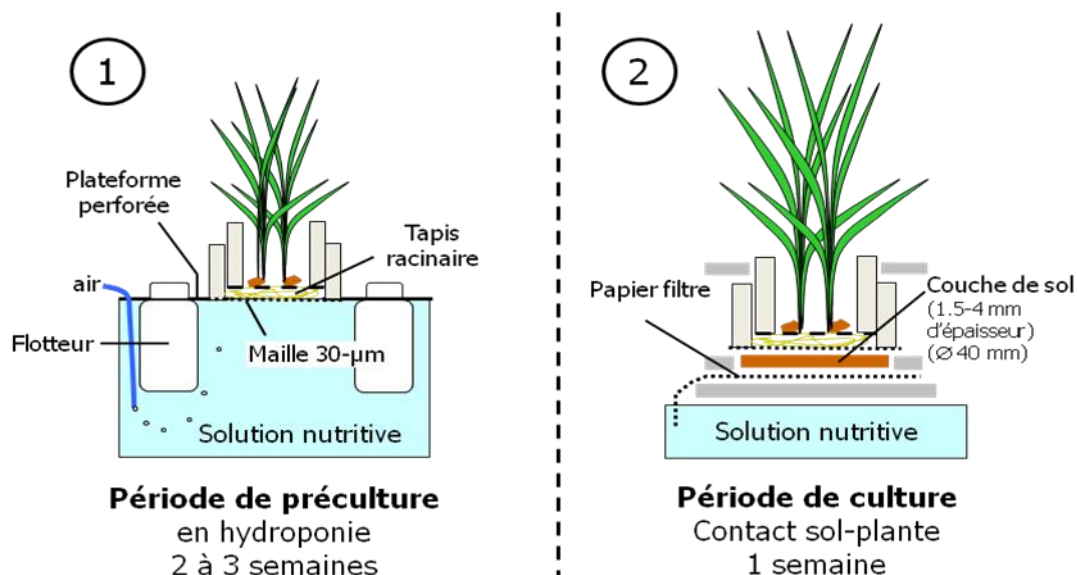


Figure A5-1 : Schéma du dispositif adapté pour la culture de la laitue (*Lactuca sativa* L.)



Figure A5-2 : Photographies des deux étapes du RHIZOtest

Dans la première phase du RHIZOtest (schéma A5-1 période de pré-culture), les salades (*Lactuca sativa* L.) sont cultivées en hydroponie c'est-à-dire en solution nutritive (culture hors-sol). Cette phase se déroule en deux temps : la germination puis la croissance.

- Pour la germination, les graines sont tout d'abord désinfectées par trempage pendant 10 minutes dans une solution de peroxyde d'hydrogène à 6% puis rincées abondamment à l'eau ultra pure). Les graines sont ensuite placées sur du papier absorbant imbibé d'une solution de germination : 600 μ M CaCl_2 , 2 μ M H_3BO_3 .
- Une fois les graines germées, elles sont placées à l'intérieur des pots de culture. La solution en contact avec les graines est alors une solution nutritive bullée à l'air contenant les éléments majeurs et les oligoéléments suivants : 2 mM KNO_3 , 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1 mM MgSO_4 ,

500 μ M KH_2PO_4 , 100 μ M NaFe(II) EDTA , 10 μ M H_3BO_3 , 2 μ M MnCl_2 , 1 μ M CuSO_4 , 1 μ M ZnSO_4 , 0,05 μ M MoO_3 . Après sept semaines et demie, les plantes forment un tapis racinaire dense à la base des pots de culture. Effectivement, les racines passent à travers la première toile mais sont bloquées par la toile avec les pores de 30 μ m.

Dans la deuxième phase, les salades sont mises en contact par le biais de leur tapis racinaire avec une fine couche de sol traité par des déchets organiques. La durée de cette phase est de 8 jours. La solution nutritive est remplacée par une solution dite de contact de composition suivante : 2mM KNO_3 , 2mM $\text{Ca(NO}_3)_2$, 1mM MgSO_4 , 50 μ M KH_2PO_4 . Ce changement s'explique par la présence des oligoéléments dans la galette de sol et par la volonté de ne pas complexer les métaux présents dans le sol (d'où la suppression de l'EDTA).



Figure A5-3 : Vue d'ensemble d'un pot de culture (à gauche) et vue rapprochée du tapis racinaire formé (à droite)

Ensuite, le sol est retiré et la plante (racines et partie aérienne) ainsi que le sol sont analysés.



A gauche : Lors de la récolte, des particules de terre restent accrochées sur le dispositif

Au centre : Séparation des racines et des parties aériennes

A droite : Echantillonnage pour envoi au laboratoire d'analyses

Les sols, mis au contact du tapis racinaire de la plante, ont été incubés au préalable à 80% de leur capacité de rétention en eau. Cette étape de deux semaines a pour objectif d'atteindre un état stationnaire au niveau des propriétés physico-chimiques et microbiologiques du sol. Une masse fraîche de sol équivalente à 3g sec est étalée dans chaque dispositif RHIZOtest.

Cette technique présente les avantages majeurs suivants (par rapport aux techniques de culture classiques) :

- Le risque de surestimer les concentrations en éléments dans les racines est limité grâce à une séparation physique du sol et des racines de la plante par la toile durant la phase

de test. Cette séparation permet une récupération rapide et propre du système racinaire (Uzu *et al.*, 2008, Chaignon and Hinsinger, 2003).

- La finesse de la couche de sol utilisée permet de la considérer comme la rhizosphère (zone de sol « bio-influencée » au contact de la racine) (Uzu *et al.*, 2008).
- La pré-culture en hydroponie permet d'obtenir des plantes avec des biomasses reproductibles de manière à évaluer la phytodisponibilité des éléments traces pour les plantes toutes choses étant égales par ailleurs (Document de soumission du projet NormaRHIZO à l'ANR, 2009).
- La petite taille des dispositifs est adaptée pour conduire un grand nombre de traitements et de réplicas sur une aire limitée (Chaignon and Hinsinger, 2003).

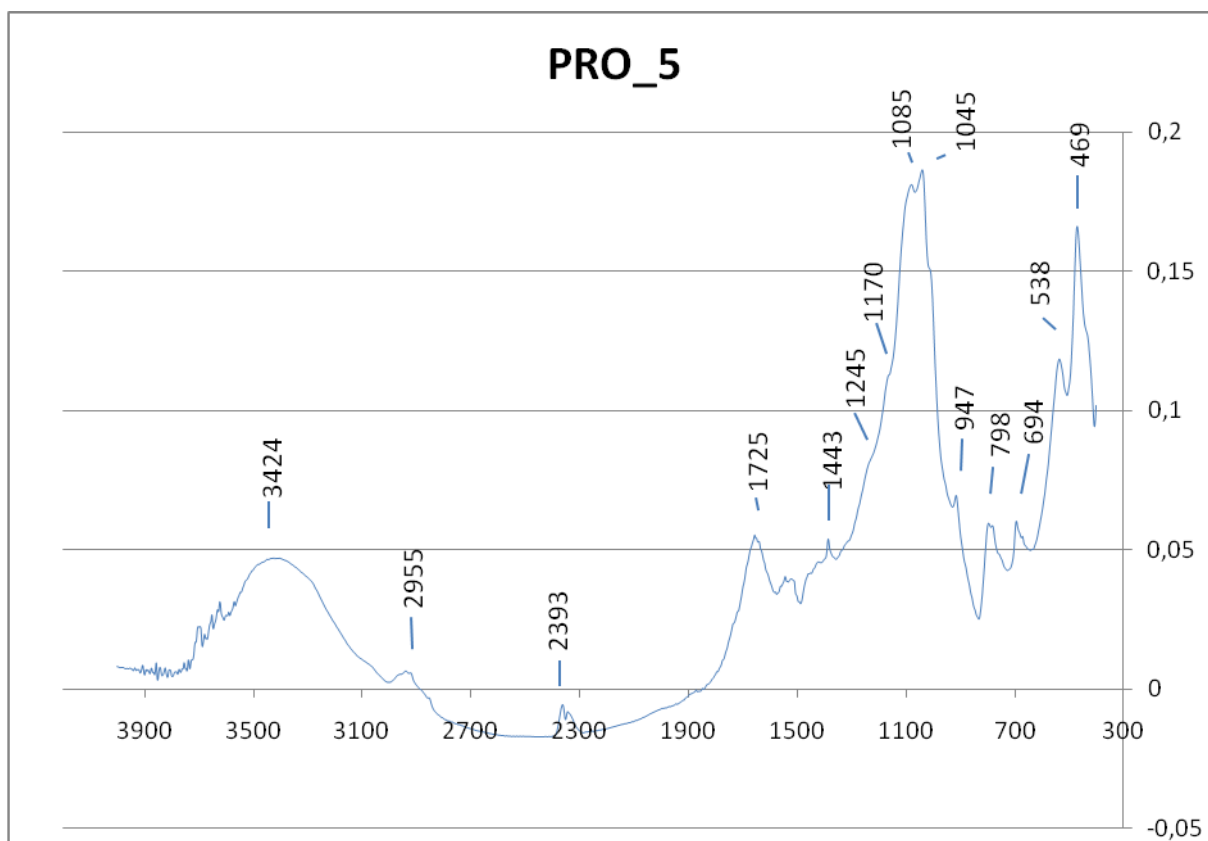
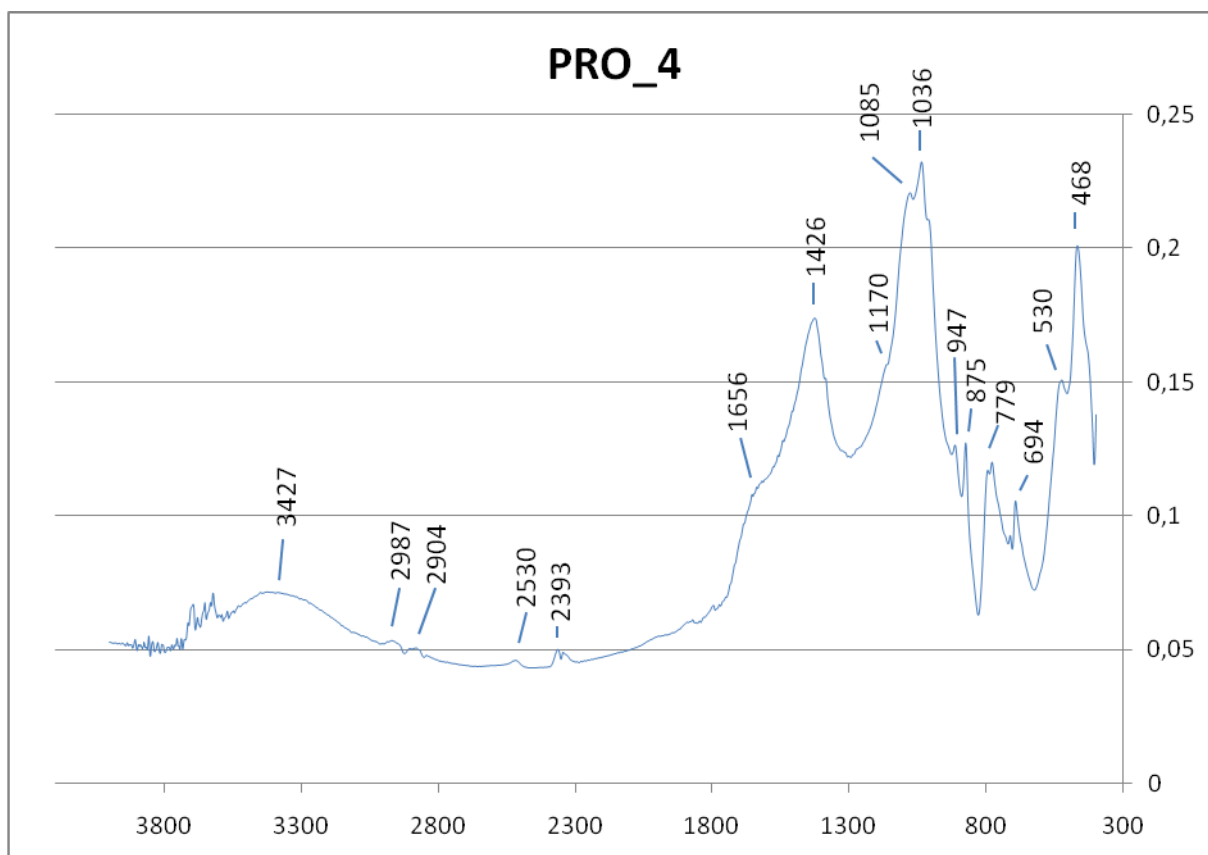
Cependant, le RHIZOtest est une expérience longue (3 à 4 semaines en théorie, 7 semaines et demie dans notre cas), qui nécessite un matériel important spécifique (serre ou chambre de culture) et qui de ce fait représente un coût bien supérieur aux techniques physico-chimiques classiques. De plus, les racines n'étant pas en contact direct avec le sol durant leur croissance, il se peut qu'elles soient moins exposées aux éléments toxiques (Chaignon and Hinsinger, 2003).

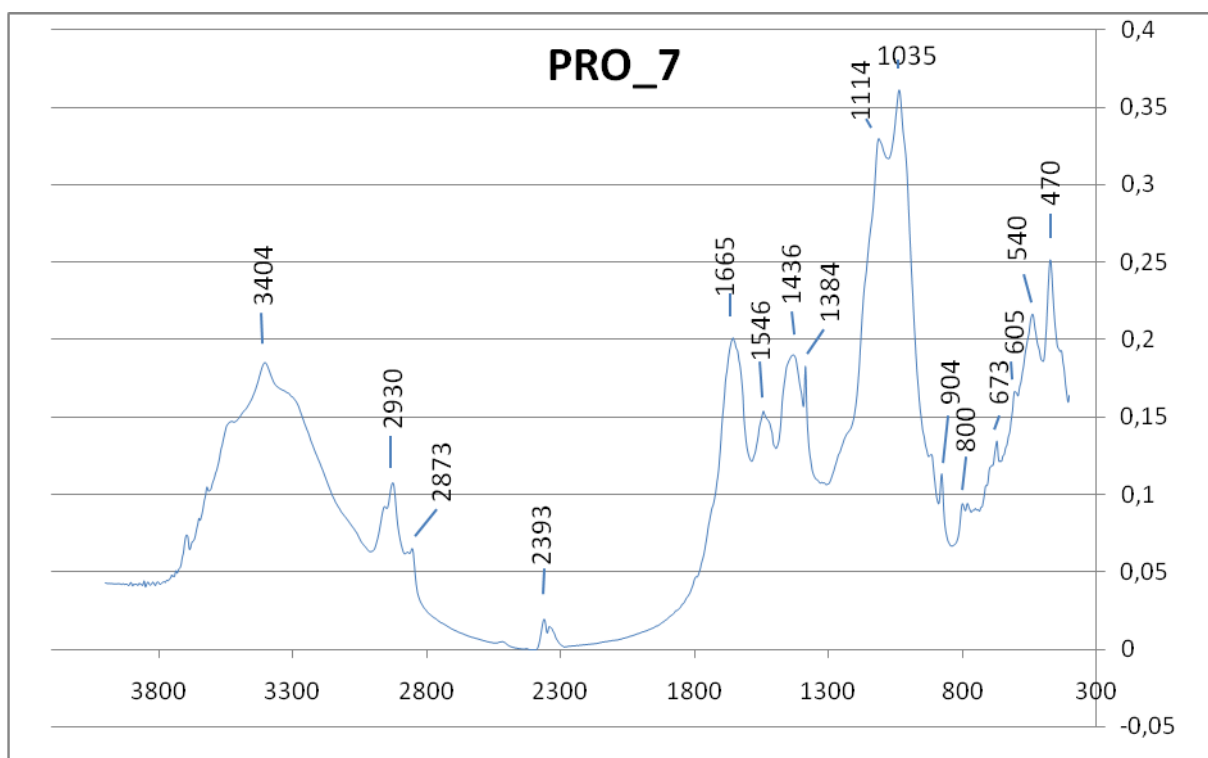
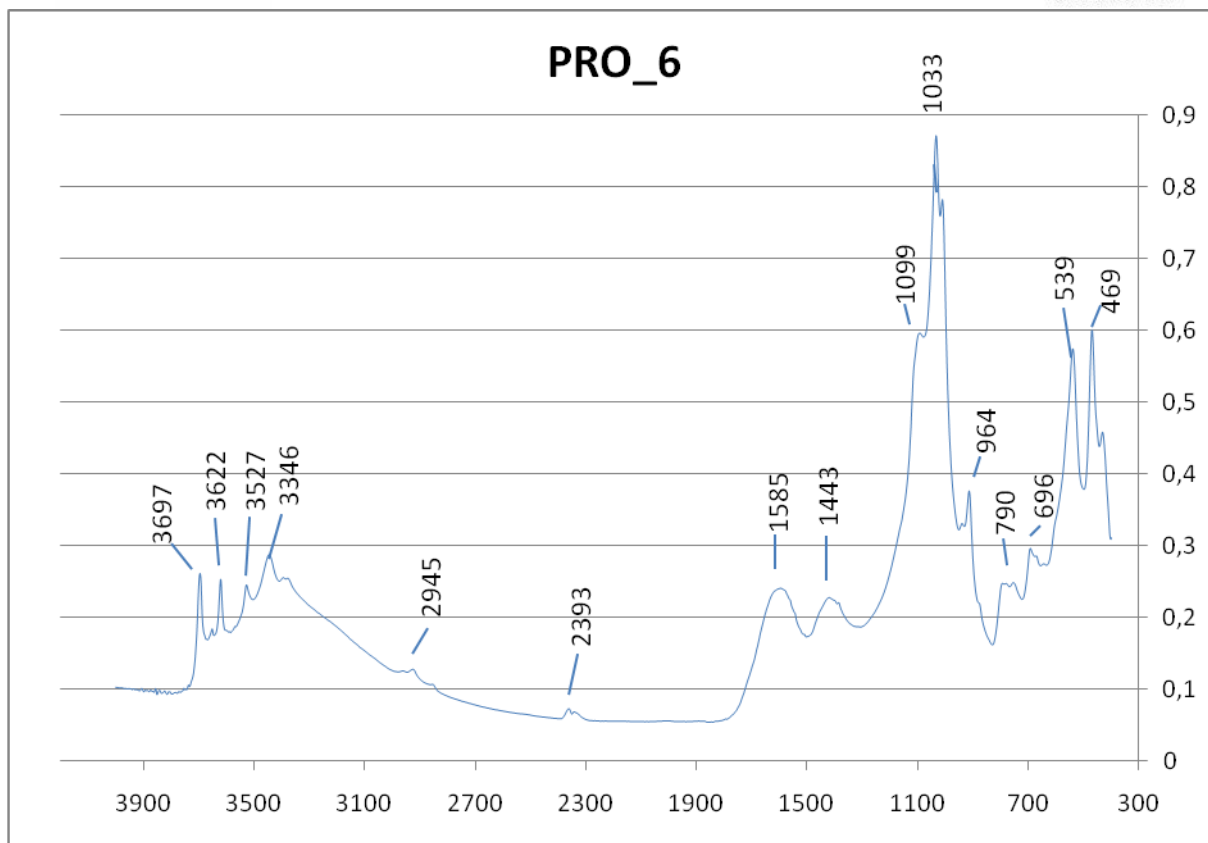
Annexe 6 : Résultats de la caractérisation des PRO

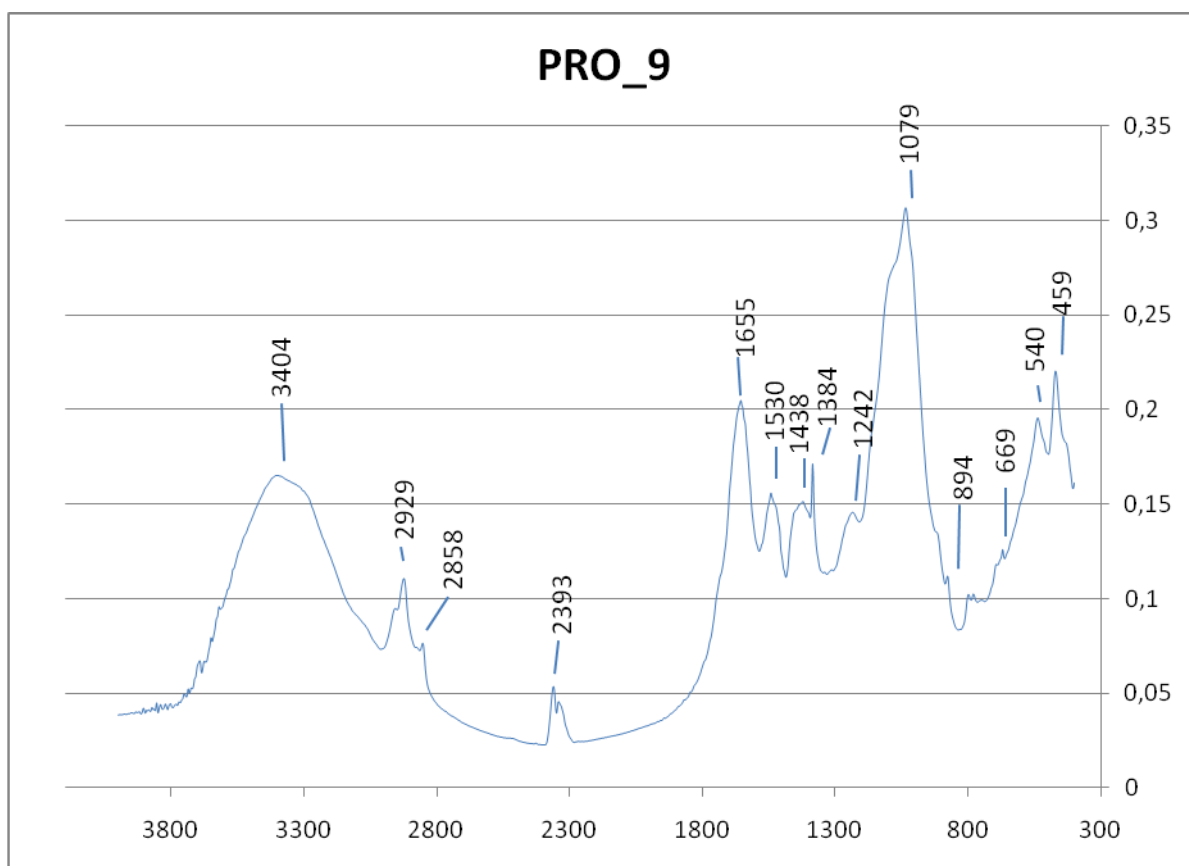
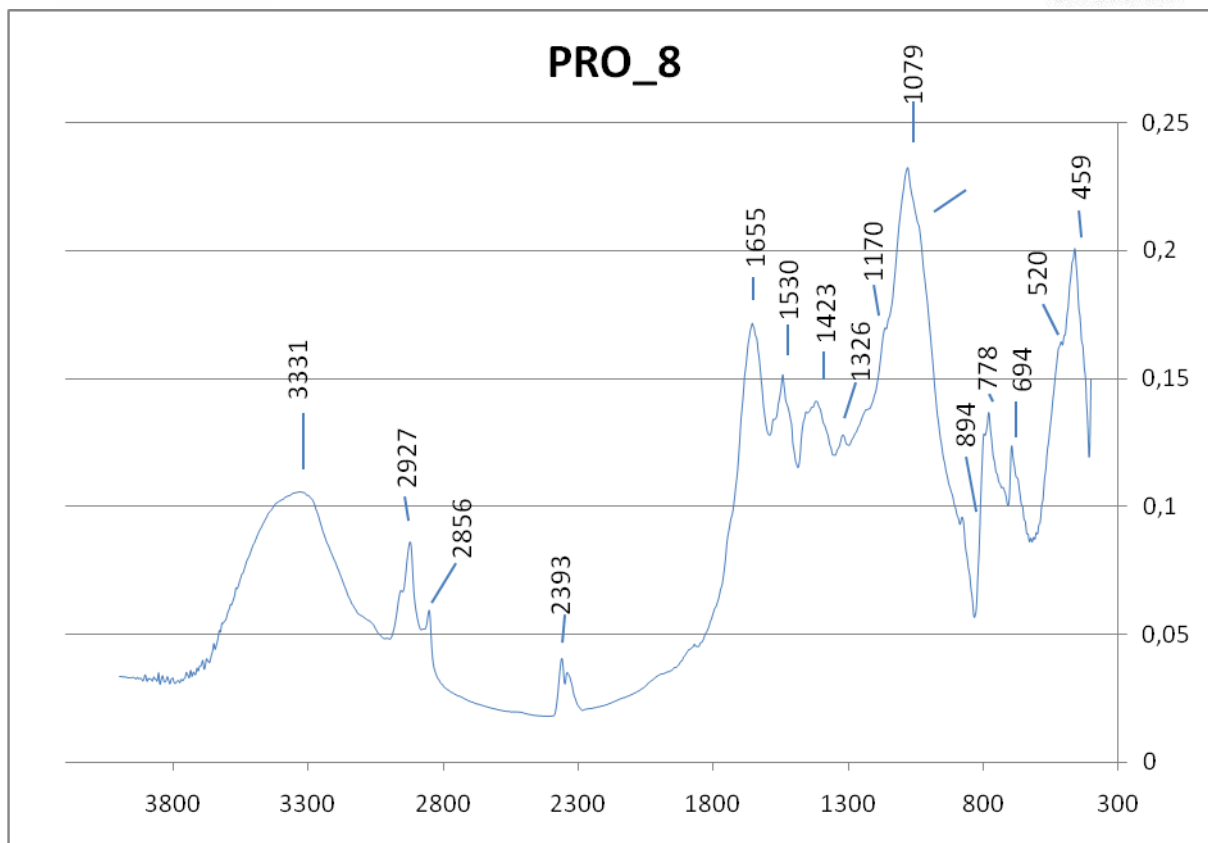
	Matière sèche (%)	Ecart type (%)	Ecart type relatif(%)
ISARD_PRO_4	67,08	0,82	1,23
ISARD_PRO_5	88,4	0,89	1
ISARD_PRO_6	79,98	0,42	0,52
ISARD_PRO_7	95,22	0,59	0,61
ISARD_PRO_8	59,33	1,34	2,26
ISARD_PRO_9	79,65	3,13	3,93
ISARD_PRO_10	95,77	0,13	0,13
ISARD_PRO_11	96,25	0,32	0,33
ISARD_PRO_12	97,61	0,71	0,73
ISARD_PRO_13	98,36	0,22	0,22
ISARD_PRO_14	98,03	0,24	0,25
ISARD_PRO_20	81,64	0,34	0,41
ISARD_PRO_21	95,64	0,16	0,16
ISARD_PRO_22	90,7	0,19	0,21

Tableau A6-1 : Taux de matière sèche des PRO

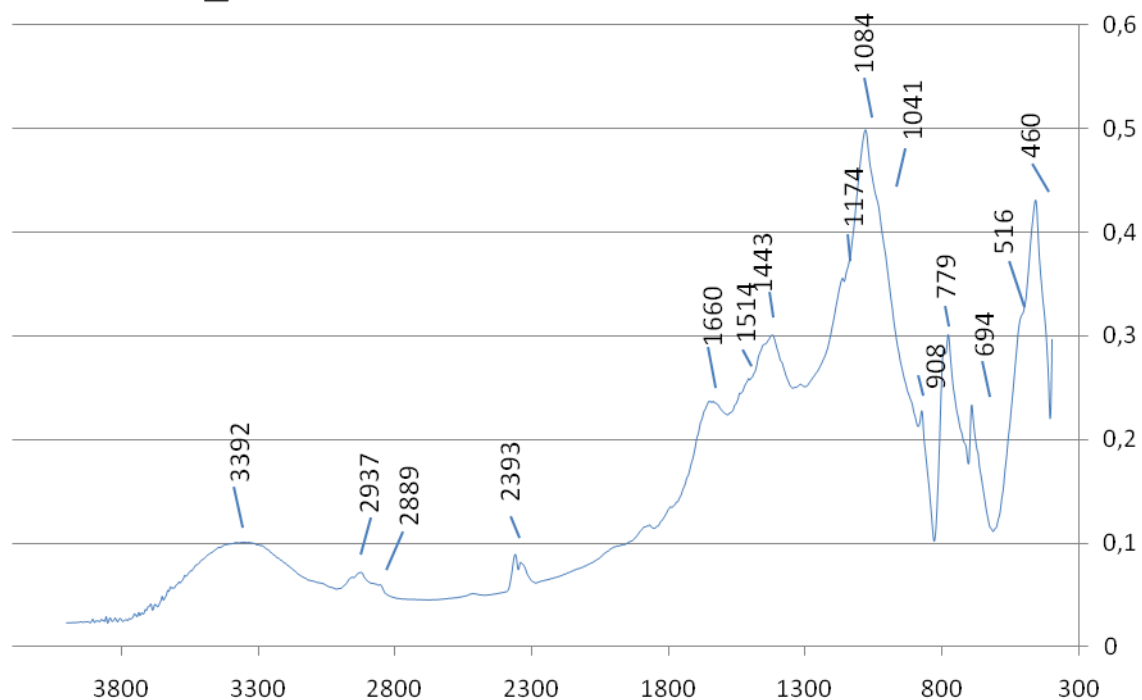
Annexe 7 : Spectres des PRO bruts



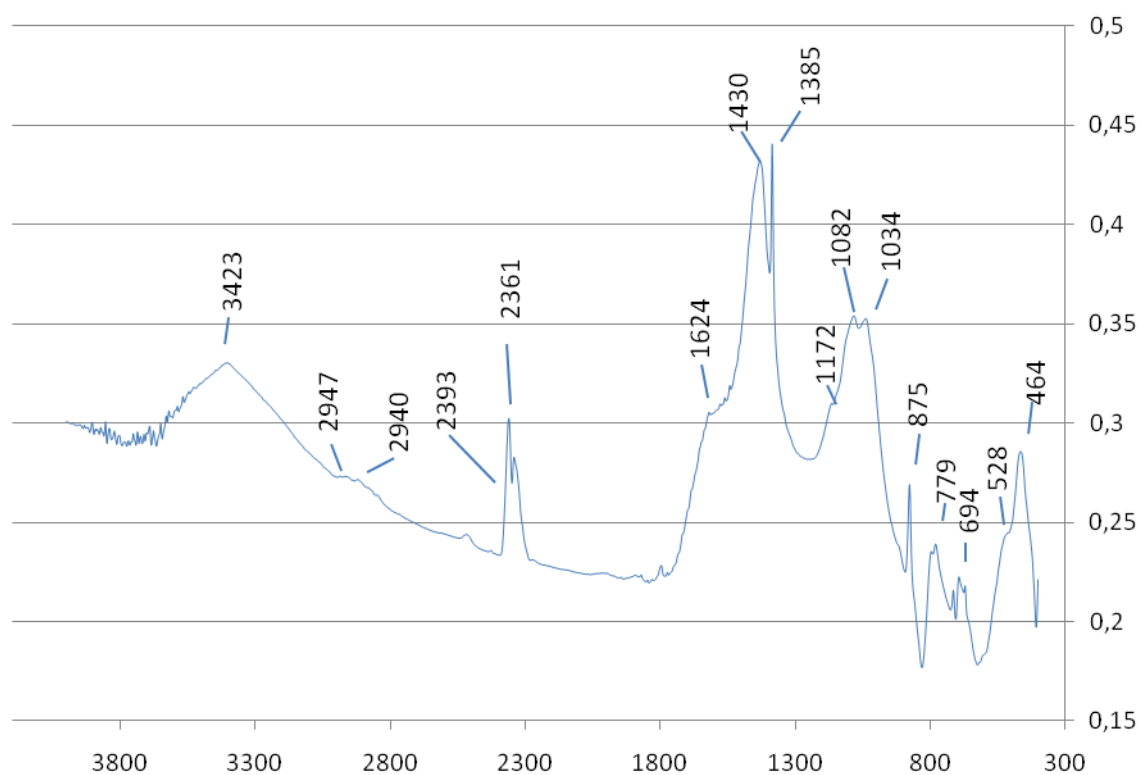


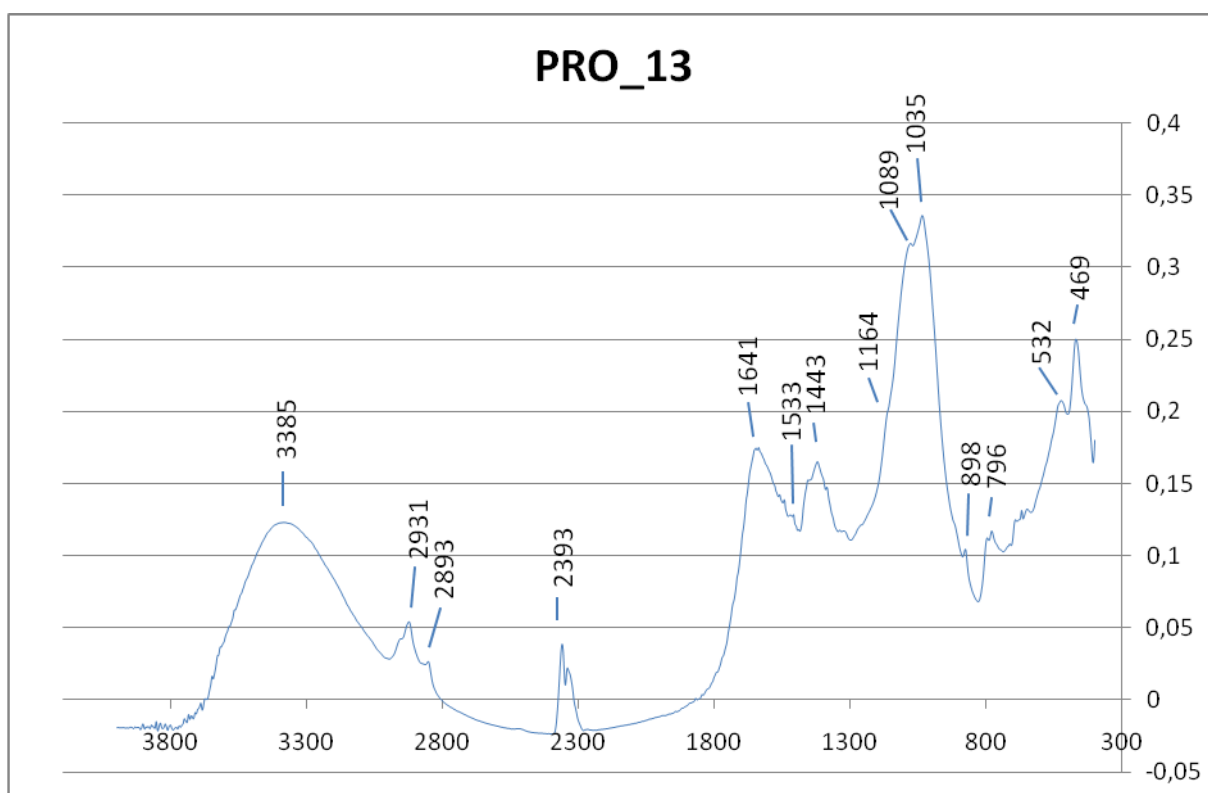
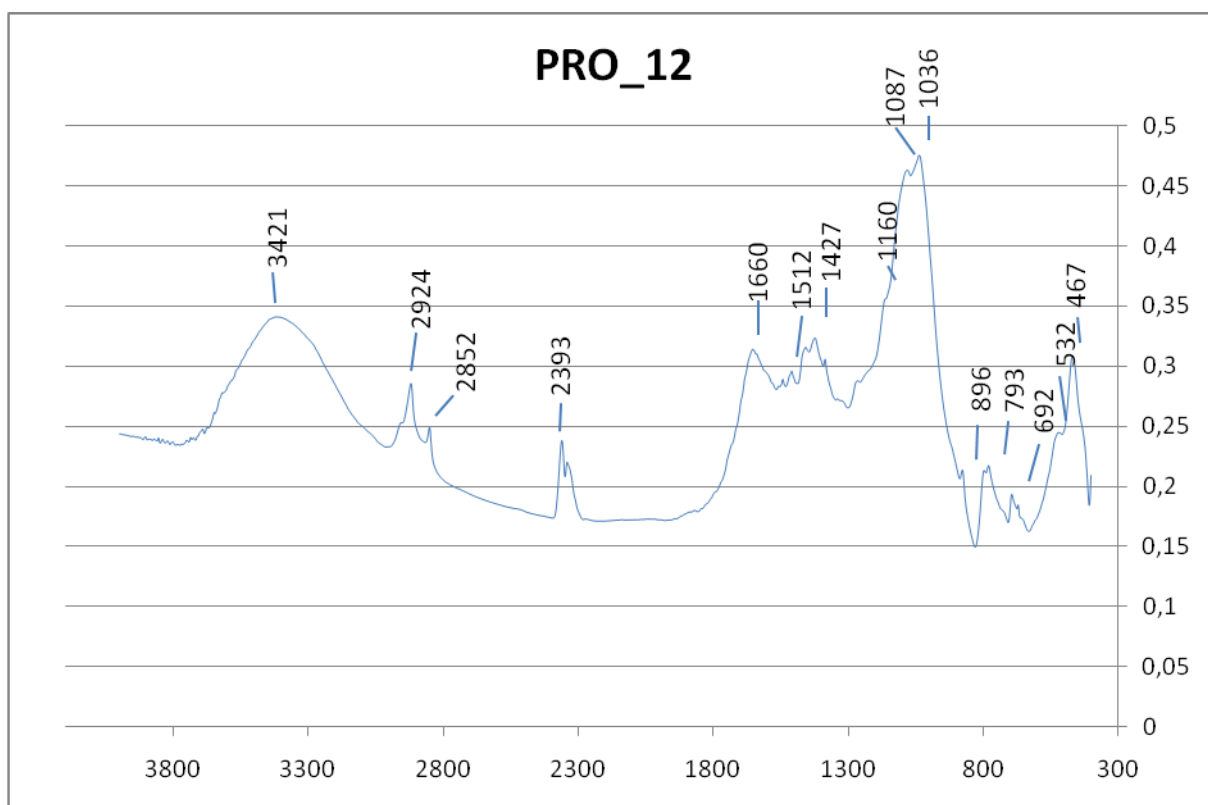


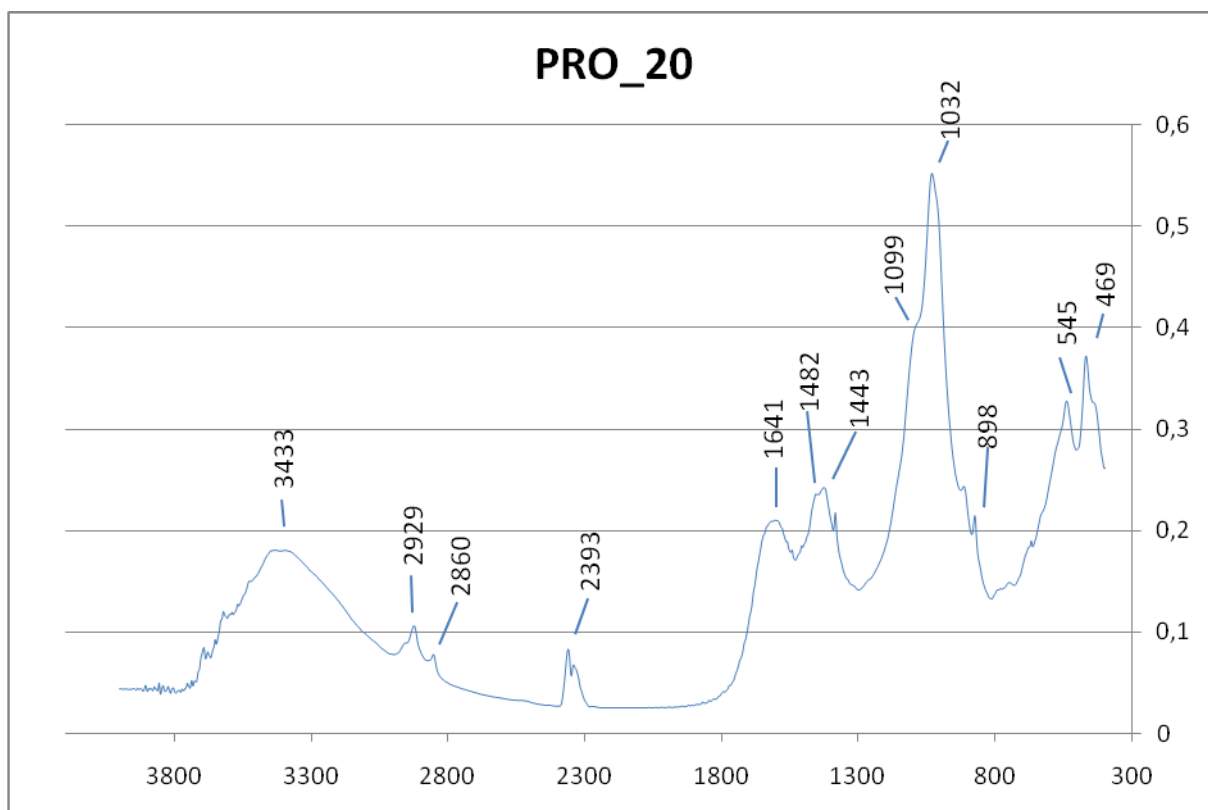
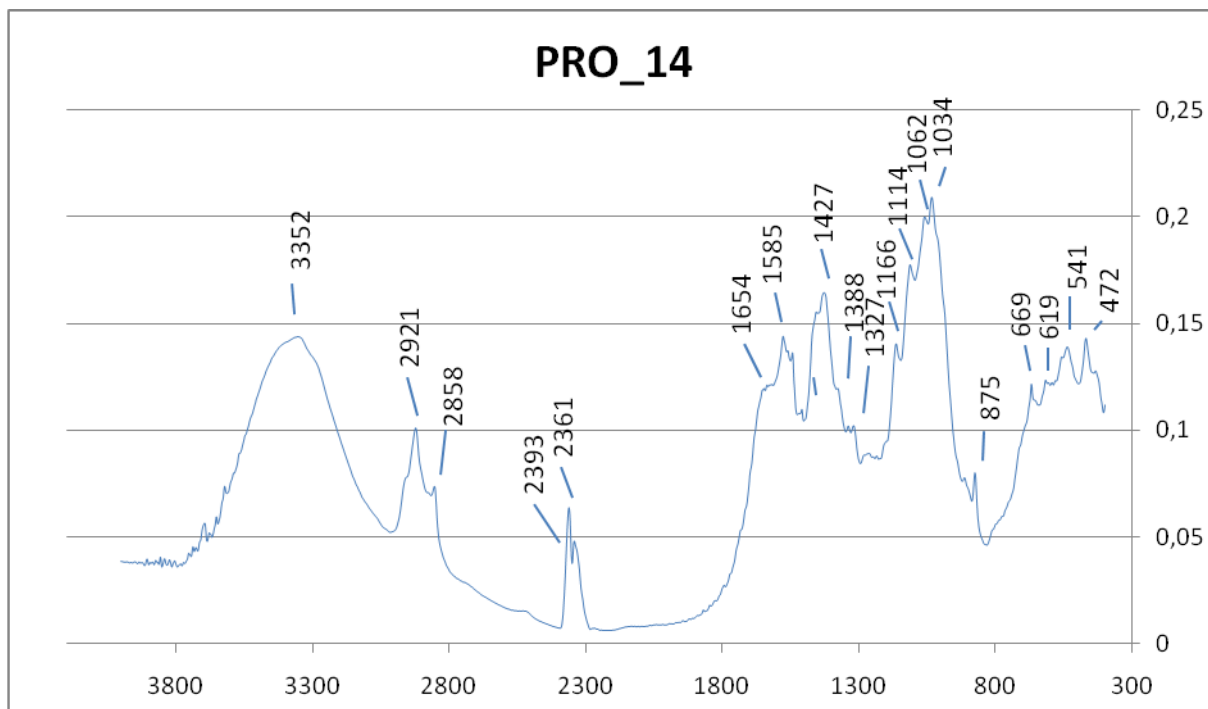
PRO_10

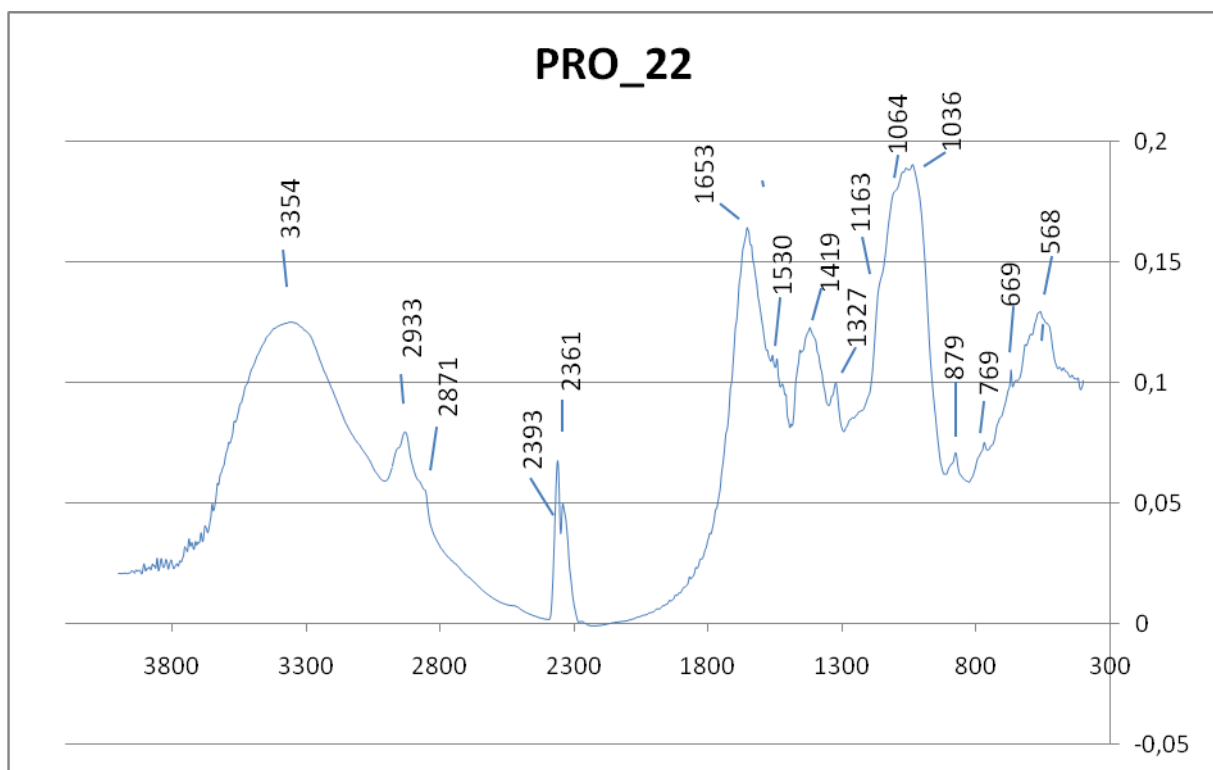
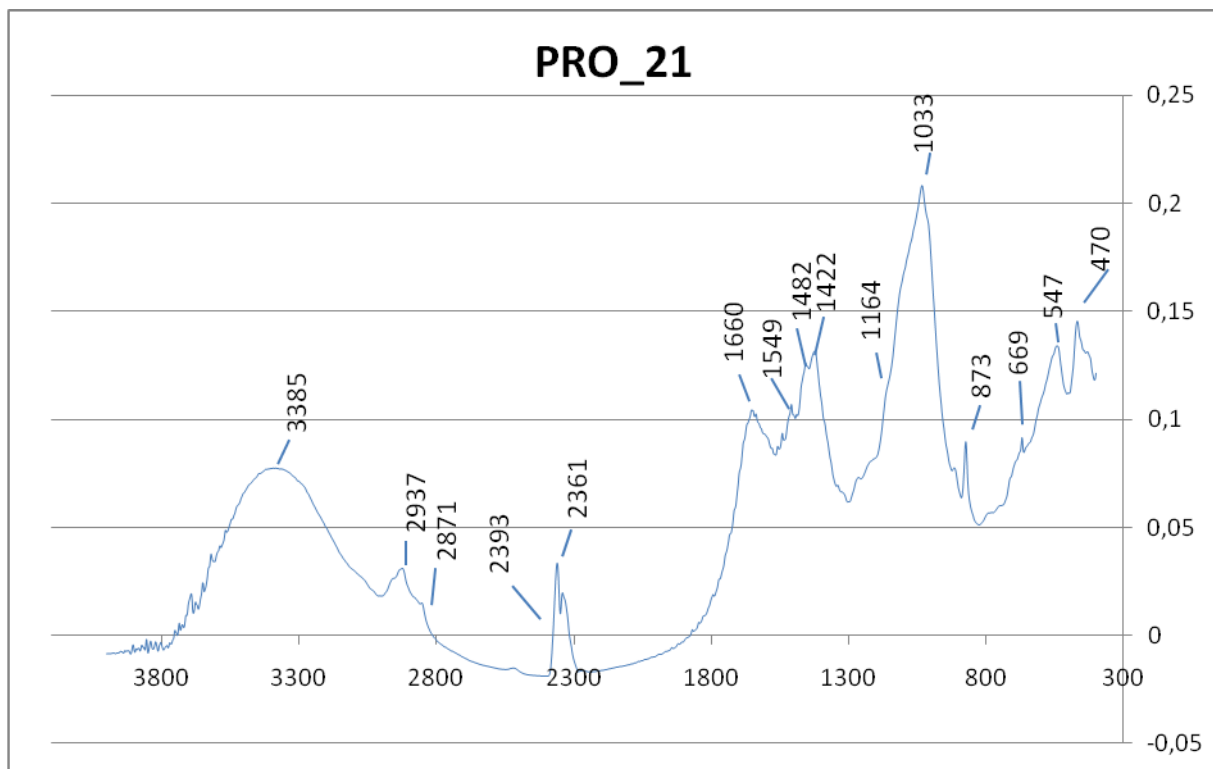


PRO_11

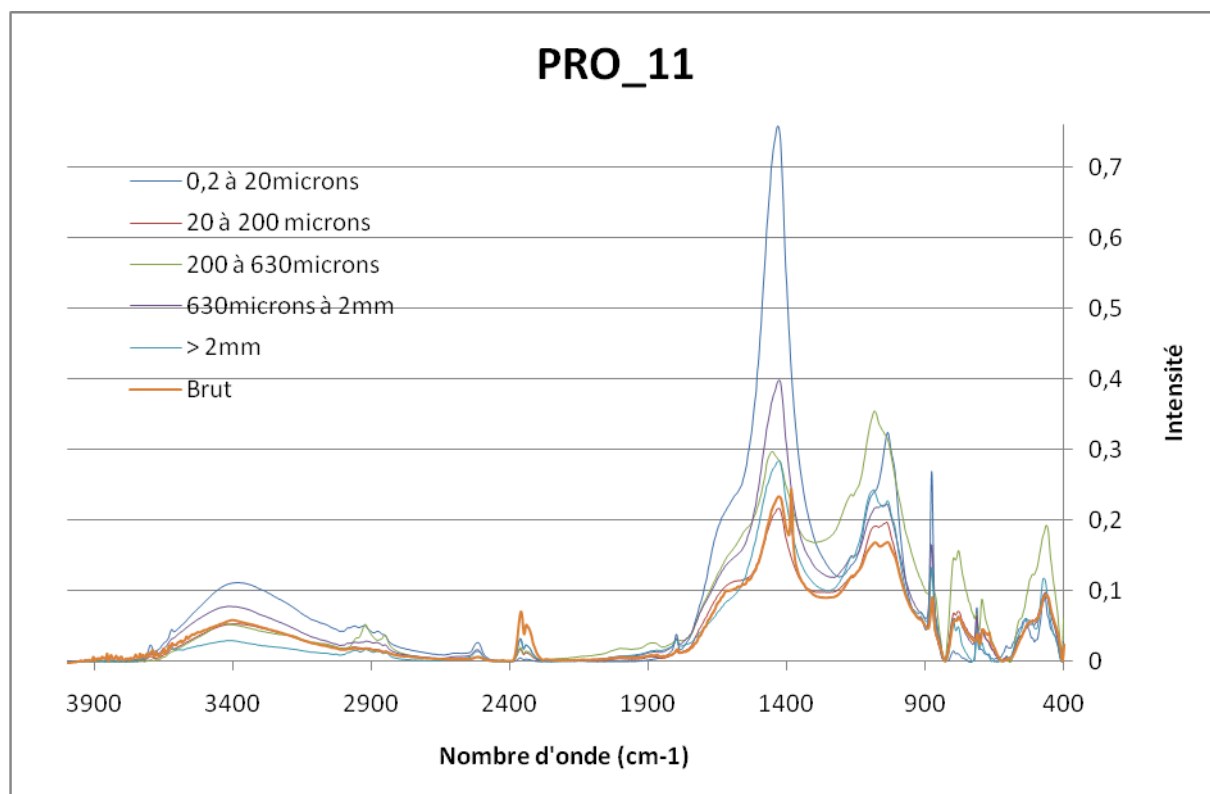
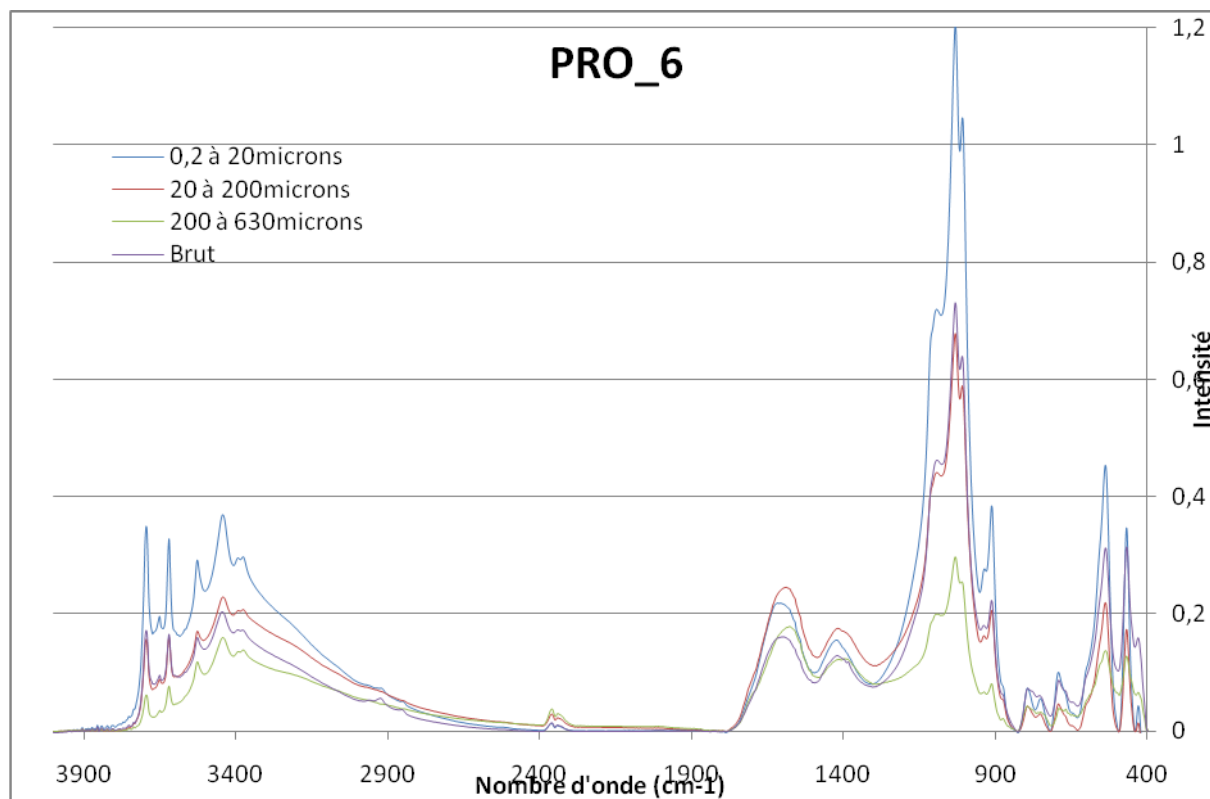









Annexe 8 : Spectres Infrarouge des fractions granulométriques des PRO 6 et 11



	4 ^{ème} page de couverture des rapports de stage	Dates du stage du 01/07/2009 au 31/12/2009
	Stage d'exécution <input type="checkbox"/> Stage élève – ingénieur <input type="checkbox"/> Stage année en entreprise : <input type="checkbox"/> 12 mois <input checked="" type="checkbox"/> 1 ^{er} semestre <input type="checkbox"/> 2 ^{ème} semestre Stage projet de fin d'études <input type="checkbox"/>	

Nom et Prénom du stagiaire : CHATAING SOPHIE

Spécialité : ☒ CGP ☐ ETI

RESUME (300 mots en minimum, précisez : objectifs, moyens, résultats, conclusions, perspectives. Attention ce résumé ne doit pas contenir d'informations confidentielles)

Mon stage s'inscrit dans le cadre du projet ISARD (Intensification écologique des Systèmes de production Agricoles par le Recyclage des Déchets). Ce projet a pour but la mise au point d'un ensemble de méthodes et d'outils permettant l'utilisation du recyclage des produits résiduels organiques (PRO) pour augmenter les productions agricoles via l'intensification des processus écologiques se déroulant dans les sols, et ceci, tout en limitant les risques posés par ces pratiques. ISARD est développé sur quatre ans par plusieurs institutions (CIRAD, INRA, IRD, ISRA ainsi que des Universités) et sur plusieurs sites (Madagascar, La Réunion, Dakar Sénégal et Feucherolles Plaine de Versailles).

Mon stage correspond à une sous-tache du projet ISARD qui s'intéresse au devenir des PRO une fois épandues et aux effets sur les sols et les cultures. Mon travail s'est développé selon deux axes. Le premier a pour objectifs de caractériser les PRO (taux de matière sèche, infrarouge, répartition et concentrations totales en éléments majeurs et traces métalliques (ETM)...). Le second a comme finalité la détermination de la biodisponibilité des ETM (prélèvement ou non des ETM par la plante, si oui, en quelles proportions et dans quelles parties de la plante (racines, feuilles)). Les objectifs de mon stage sont donc de déterminer où se situent les quantités les plus importantes de métaux lourds dans les PRO et d'étudier leur éventuel transfert vers une plante afin d'estimer si il existe un risque lors de sa consommation.

La répartition granulométrique des PRO a été faite par un tamisage humide (tamis de 2mm à 20µm). Les échantillons ont ensuite été broyés puis mis en solution par une attaque fluoro-nitro-perchlorique. Les concentrations en ETM ont été déterminées par ICP-AES. La caractérisation des PRO a mis en évidence la diversité de ces produits (taux de matière sèche de 59% à plus de 98%, répartition granulométrique très variable). Les spectres IR ont montré la présence de nitrates, phosphates, silicates, carbonates, sulfates, amines, hydroxyles et de chaînes aliphatiques.

L'évaluation de la biodisponibilité des ETM a été faite grâce à un bio-test appelé RHIZOTest. Une plante maraîchère (ici la laitue) est cultivée en hydroponie jusqu'à l'obtention d'un tapis racinaire suffisant (quasiment 7 semaines dans notre cas). La plante est alors mise en contact pendant 8 jours avec une fine couche de sol traité avec des déchets organiques. A la fin de cette période, le sol, les racines et les parties aériennes sont récupérés séparément et analysés.

Par manque de temps, les analyses des plantes ainsi que celles des mises en solutions des PRO ont été sous traitées au laboratoire d'analyses interne du CIRAD. Ces résultats n'étaient pas encore disponibles au moment de rendre mon rapport de stage.